苹果 6-磷酸山梨醇脱氢酶基因启动子逆境诱导表达特性研究*

夏 惠[1,2 #] 刘 磊[3 #] 王 秀[1] 沈妍秋[1] 郭雨伦[1] 梁 东[1,2**]

[1] 四川农业大学园艺学院 成都 611130

[2] 四川农业大学果蔬研究所 成都 611130

[3] 成都市农林科学院 成都 611130

摘要 为研究6-磷酸山梨醇脱氢酶（Sorbitol-6-Phosphate dehydrogenase，S6PDH）基因启动子（S6PDHp）的逆境诱导表达特性，利用Gateway技术构建了S6PDH基因启动子区 5'端系列缺失体与*GUS*基因的融合表达载体，并通过农杆菌介导法转化拟南芥。对转基因拟南芥进行低温和外源ABA处理，通过GUS蛋白活性变化分析S6PDHp的逆境诱导表达特性。研究结果发现，通过Gateway技术构建了4个S6PDHp 5'端系列缺失体与β-葡糖苷酸酶（*GUS*）基因的融合表达载体（pGWB433-S6PDHp1、pGWB433-S6PDHp2、pGWB433-S6PDHp3和pGWB433-S6PDHp4）并获得了相应的转基因拟南芥。对转基因植株进行低温处理后发现，pGWB433-S6PDHp3转基因植株中的GUS活性增幅最大，达到显著水平，而其他转基因植株中的GUS活性基本保持不变。外源ABA处理后发现，除pGWB433-S6PDHp4外，其余启动子缺失体转基因拟南芥中GUS活性显著升高。以上结果表明，低温和外源ABA能够诱导S6PDHp的表达，但不同的缺失体响应程度不同，意味着在S6PDHp序列（-2396bp至-236bp）内中可能存在着响应逆境胁迫的正负调控顺式作用元件。

关键词 6-磷酸山梨醇脱氢酶 启动子 报告基因 遗传转化 苹果

中图分类号 S603.2

山梨醇（Sorbitol）是大多数蔷薇科植物糖代谢的主要形式，如同其他植物中的蔗糖[1-2]。除此之外，山梨醇还可以作为一种小分子渗透调节物质提高植物对干旱[3-4]、火疫病[5]、低温和盐[6]等各种逆境的抗性。6-磷酸山梨醇脱氢酶（Sorbitol-6-phosphate dehydrogenase，S6PDH；EC 1.1.1.200）在植物体内催化葡萄糖-6-磷酸生成山梨醇-6-磷酸，再经6-磷酸山梨醇磷酸酶（sorbitol-6-phosphatase，SorPP；EC 3.1.3.50）脱磷酸后生成山梨醇[2]。S6PDH参与的反应被认为是山梨醇合成的关键调控步骤[7-8]。编码 S6PDH 的基因序列现已获得[9-10]。研究表明，在干旱、低温和盐等逆境胁迫下，S6PDH 的表达量和山梨醇含量均会升高[3,4,6,11]。

启动子对于一个基因的表达具有非常重要的调控作用。Qi 等[12]认为大豆 PvSR2 基因启动子的（-222/-188）区和 （-187/-147）区是重金属胁迫响应的关

收稿日期：2017-03-21 接受日期：2017-04-14

同等贡献作者

*国家自然科学基金项目（31201600）资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31201600).

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: liangeast@sina.com).

键区域。Xu 等[13]发现葡萄芪合成酶基因启动子的（-162/0）区对胁迫诱导最为关键。Li 等[14]的结果也表明 GPP 基因启动子受不同逆境的诱导。在以前的研究中我们发现，S6PDH 基因的启动子（S6PDHp）长 2396bp。通过在线软件预测，发现启动子序列中具有与胁迫响应、光照响应和激素响应等相关的顺式作用元件。烟草瞬时转化试验还发现该启动子具有低温、脱落酸（abscisic acid，ABA）和光照诱导表达的特性[15]。

因此，为了进一步验证和探索S6PDHp的逆境诱导表达特性，在前期获得启动子序列的基础上，通过Gateway技术构建了系列S6PDHp5’端序列缺失体与报告基因GUS的融合表达载体，进一步通过农杆菌介导法转化拟南芥，研究不同诱导条件下转基因拟南芥中GUS蛋白的活性变化。研究结果将为深入了解S6PDHp的功能特性和S6PDH的表达调控等奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用的拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）为Columbia野生型。4-甲基伞形酮酰-β-D-葡萄糖酸苷（MUG）、SDS、Tris酚、X-gal、4-甲基伞形酮（4-MU）购自Sigma公司，BP Clonase Enzyme Mix和LR Clonase Enzyme Mix均购自Invitrogen公司，其它试剂均为国产分析纯。载体pDONR221（Kan抗性）、pGWB433、农杆菌EHA105和含有苹果*S6PDHp*基因的载体（*pMD-S6PDHp*）为本实验室保存。大肠杆菌TOP10感受态购买于天根公司。

1.2 利用 Gateway 技术构建 S6PDHp-GUS 系列融合表达载体

根据启动子序列测序结果[15]并结合考虑各类作用元件的分布，从启动子 5’端碱基开始，依次设计了 4 个引物 attB-PN（N=1、2、3、4）（1F）S（表 1）。使用此 4 个引物分别与 attB-P（1F）A（表 1）配对，以 pMD-S6PDHp 为模板进行第 1 轮 PCR 扩增，产物经 1%琼脂糖凝胶电泳后切胶回收纯化。然后以第 1 轮 PCR 纯化产物为模板，attB-PN（N=1、2、3、4）（2F）S 和 attB-P（2F）A（表 1）为引物进行第 2 轮 PCR 扩增，产物经 1%琼脂糖凝胶电泳后切胶回收纯化。最后再以第 2 轮 PCR 纯化产物为模板，attB A/S 为引物（表 1）进行第 3 轮 PCR 扩增，最终获得携带 attB 全位点的 attB-S6PDHp N（N=1、2、3、4）产物。以上产物进行回收纯化后用于下一步 BP 反应构建 Entry 载体。

利用得到的 attB-S6PDHp N（N=1、2、3、4）产物和 pDONR221 进行 BP 反应，构建含卡那霉素抗性的 Entry 载体。将 BP 反应产物转化大肠杆菌感受态细胞后，用卡那霉素进行筛选，并对菌液进行 PCR 鉴定。将获得的 Entry 载体质粒通过 LR 反应连接到 pGWB433 表达载体上，将 LR 反应产物转化大肠杆菌感受态细胞中，用壮观霉素进行筛选，并对菌液进行 PCR 鉴定，引物为 attBA/S。鉴定为阳性的菌液进行测序验证。测序正确的菌液提取质粒后转化农杆菌感受态 EH105 待用。载体结构和缺失体长度如图 1 所示。

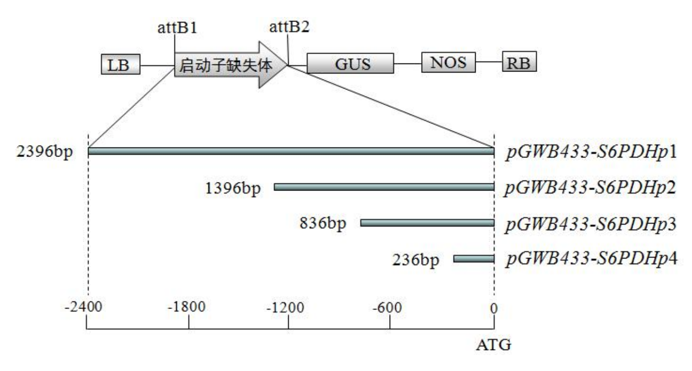


图 1 *S6PDHp* 系列缺失体 GUS 融合表达载体构建示意图

Fig.1 Schematic diagram of vector constructions for *S6PDHp* deletions

1.3 拟南芥育苗和培养

首先用 70%的酒精（1min）和 NaClO 溶液（10%的 NaClO 水溶液，10min）依次浸泡拟南芥种子；然后用无菌水冲洗至少 3 次；然后把种子均匀悬浮于 0.05%的琼脂糖溶液中，再倾倒于不含抗生素的固体 B5 培养基上，风干后封口。

将以上培养皿在 4℃冰箱中放置 4~7 天，然后把培养皿放到光照培养箱中进行培养（16h 光照 25℃，8h 黑暗 20℃）。待拟南芥长出 4-6 片真叶时进行移苗土培。移苗培养后 3~4 周后即可形成大量花簇，可用于下一步转基因试验。移苗土培期间约 10d 施用一次 Hogland 培养液。

表 1 引物序列和用途

Table 1 Sequence and usage of primers

名称 Name	引物序列 Sequence	用途 Usage
ttB-P（1F）A	AGAAAGCTGGGTGTTTTCTCACTCTCCAAAC	第 1 轮 PCR The first round PCR
attB-P1（1F）S	AAAAAGCAGGCTAAACGAGGAGGTGAGGG	第 1 轮 PCR The first round PCR
attB-P2（1F）S	AAAAAGCAGGCTTGTATTCAGTAGAGATTTTG	第 1 轮 PCR The first round PCR
attB-P3（1F）S	AAAAAGCAGGCTGGTGTGCGGATAACACAT	第 1 轮 PCR The first round PCR
attB-P4（1F）S	AAAAAGCAGGCTAATTATATGGCACATCACG	第 1 轮 PCR The first round PCR
attB-P（2F）A	ACTTTGTACAAGAAAGCTGGGTGTTTTC	第 2 轮 PCR The second round PCR
attB-P1（2F）S	AGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTAAACG	第 2 轮 PCR The second round PCR

attB-P2（2F）S	AGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTTGTATTC	第 2 轮 PCR	The second round PCR
attB-P3（2F）S	AGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTGGTG	第 2 轮 PCR	The second round PCR
attB-P4（2F）S	AGTTTGTACAAAAAAGCAGGCTAATTATATG	第 2 轮 PCR	The second round PCR
attB A	GGGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCT	第 3 轮 PCR	The third round PCR
attB S	GGGGACCACTTTGTACAAGAAAGCTGGGT	第 3 轮 PCR	The third round PCR

1.4 拟南芥转基因及转基因植株筛选

阳性农杆菌培养至 OD600 值为 1.5-2.0，离心后用适量 5%蔗糖溶液重悬至 OD600 值为 0.4-0.7 即可，再加入 0.02%的 Sweet 试剂。立即浸染已经提前一天浇好水的拟南芥花絮 10s。黑暗培养 24h 后转至正常条件培养至结果，记为 T0 代。

将收获的 T0 代种子进行无菌消毒后，在含有 50mg/L 的卡那霉素的 MS 培养基上进行筛选。培养两周后获得 T1 代拟南芥抗性幼苗，对 T1 代拟南芥的叶片提取总 DNA 后进行 PCR 检测（引物为 attB），检测出现目的条带的拟南芥视为转基因成功。以上植株经过连续 3 代筛选得到 T3 代纯合体，收取种子后进行后续试验。

1.5 转基因植株的低温和 ABA 处理

将纯化的各缺失体转基因拟南芥种子培养至 6-8 片真叶后，分别进行 4℃低温和 ABA（100μM）处理，4℃低温进行 12h，ABA 处理进行 24h。样品采后立即投入液氮并保存于-80℃冰箱备用。

1.6 转基因植株 GUS 酶活性分析

GUS 活性测定参照 Jefferson 等[16]的方法。

2 结果与分析

2.1 基于 Gateway 技术构建 S6PDHp 5’端系列缺失体和 GUS 融合表达载体

首先根据Gateway技术原理，利用Premier（5.0）软件设计系列引物（表 1），通过3轮PCR扩增，获得带有attB全位点的5’端系列缺失体片段（attB-S6PDHp N（N=1、2、3、4））。然后将以上缺失体片段回收纯化后和pDONR221进行BP反应，反应后attB-S6PDHpN（N=1、2、3、4）基因编码序列将pDONR221载体上的ccdB位点置换，形成Entry载体。最后将获得的系列Entry载体质粒通过LR反应连接到pGWB433载体（Destination vector）上形成表达载体（Expression clone），依次命名为pGWB433-S6PDHpN（N=1，2，3，4）（图1）。通过引物attB A/S

对以上4个载体进行PCR鉴定（图2）和测序分析。经鉴定的阳性质粒转化农杆菌感受态EHA105待用。



图 2 *S6PDHp* 系列缺失体和 *GUS* 基因融合表达载体 PCR 检测

M：DNA 分子标准 DL2000；1：*pGWB433-S6PDHp1*；2：*pGWB433-S6PDHp2*；3：*pGWB433-S6PDHp3*；4：*pGWB433-S6PDHp4*

Fig. 2 PCR identification of *S6PDHp::GUS* fusion vectors construction

M:DNA Marker DL2000; 1:*pGWB433-S6PDHp1*; 2:*pGWB433-S6PDHp2*; 3:*pGWB433-S6PDHp3*; 4:*pGWB433-S6PDHp4*

2.2 拟南芥转基因阳性植株的获得与验证

农杆菌浸染拟南芥花絮后，获得的 T0 代种子进行抗性筛选。将经抗性筛选的幼苗移栽并培养至成熟植株后，采集其叶片，提取叶片总 DNA，用 PCR 法对其进行检测。结果表明：除 3 号缺失体有 1 株没有检测到目的条带外，其他转基因植株均检测到大小合适的目的条带（图 3）。将检测为阳性的转基因植株继续继代培养，依次获得纯化了的 T3 代种子，T3 代种子经卡那霉素抗性筛选后能全部长出真叶成活。以上结果表明我们已获得了可以用于下一步试验的转基因拟南芥。

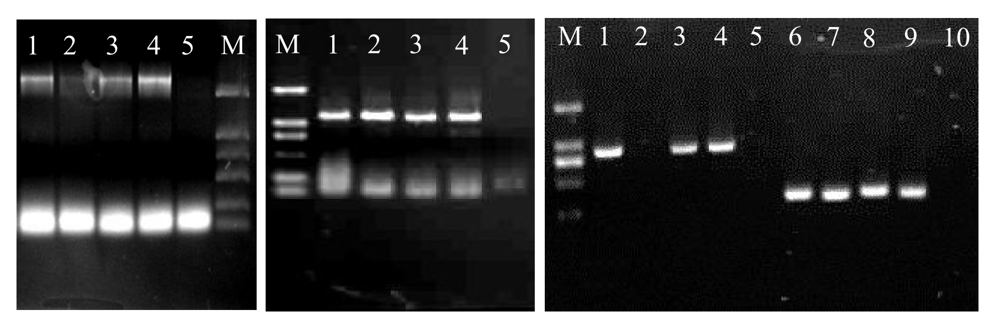


图 3 *S6PDHp* 系列缺失体转化拟南芥的 PCR 检测

A：*pGWB433-S6PDHp1*，M：DNA 分子标准 DL2000，1~4：转基因株系，5：野生型；

B：*pGWB433-S6PDHp2*，M：DNA 分子标准 DL2000，1~4：转基因株系，5：野生型；

C：*pGWB433-S6PDHp3* 和 *pGWB433-S6PDHp4*，M：DNA 分子标准 DL2000，1~4 和 6~9：转基因株系，5 和 10：野生型

Fig. 3 PCR detection of *S6PDHp* deletion constructs in transformed Arabidopsis

A:*pGWB433-S6PDHp1*, M:DNA Marker DL2000, 1~4:transgenic lines, 5:WT, wild type;

B:*pGWB433-S6PDHp2*, M:DNA Marker DL2000, 1~4: transgenic lines, 5:WT, wild type;

C:*pGWB433-S6PDHp3* and *pGWB433-S6PDHp4*, M:DNA Marker DL2000, 1~4 and 6~9: transgenic lines, 5 and 10:WT, wild type

2.3 低温和 ABA 处理下转基因拟南芥中 GUS 活性分析

将 T3 代种子无菌消毒后培养到 4-6 片真叶时分别进行低温和 ABA 处理，在分别处理 12h 和 24h 后进行 GUS 酶活检测（图 4 和图 5）。结果表明：在低温处理 12h 后，与常温对照相比，各缺失体转基因株系中 GUS 活性都有所提高，其中缺失体 pGWB433-S6PDHp3 转基因植株中的 GUS 活性增幅最大，达到 1.89 倍。而其他转基因株系中 GUS 活性在处理前后变化不显著（图 4），表明启动子序列中-836 至-236 部分可能具有低温响应的顺式作用原件。与无菌水处理的对照相比，经过 24 小时的 ABA 处理后，除 pGWB433-S6PDHp4 外，其余启动子缺失体转基因拟南芥中 GUS 活性显著升高，分别提高了 9.84 倍、10.73 倍和 10.71 倍（图 5），表明以上缺失体能被 ABA 诱导。

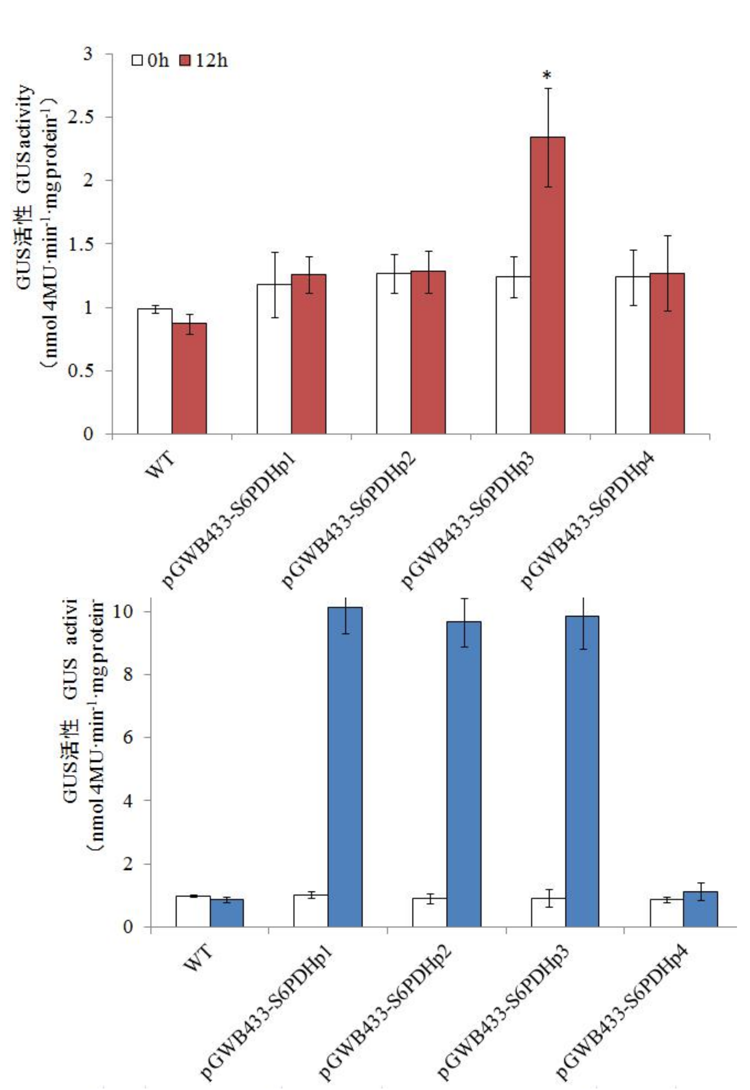


图 4 低温处理下转基因拟南芥中 GUS 活性分析

GUS 活性平均值源自 3 次独立试验；标准差标于柱型图上；单侧配对 t 检验用于显著性差异检测分析（*：$P<0.05$）；WT：野生型

Fig.4 Analysis of *GUS* activity against low temperature stress in transformed Arabidopsis by *S6PDHp* deletion

Mean activity was averaged from 3 independent experiments; SD is indicated on each bar; Significant differences between treated (12h) and untreated (0h) were assessed by one-sided paired t-tests (*, $P<0.05$); WT, wild type

图 5 ABA 处理下转基因拟南芥中 GUS 活性分析

GUS 活性平均值源自 3 次独立试验；标准差标于柱型图上；单侧配对 t 检验用于显著性差异检测分析（**：$P<0.01$）；WT：野生型

Fig.5 Analysis of *GUS* activity for ABA treatment in transformed Arabidopsis by *S6PDHp* deletion

Mean activity was averaged from 3 independent experiments; SD is indicated on each bar. Significant differences between treated and untreated (Mock) were assessed by one-sided paired t-tests (**, $P<0.01$); WT: wild type

3 讨论

低温是一种植物经常遇到的环境胁迫，ABA 是公认的植物逆境响应信号，为了探索苹果 6-磷酸山梨醇脱氢酶基因启动子是否具有对低温和 ABA 诱导响应的活性及关键启动子区段，我们在分析了该基因启动子序列的基础上[15]，通过 Gataway 技术构建了含有该基因启动子序列 5'端系列缺失体与 GUS 报告基因融合的表达载体，应用农杆菌介导转化了拟南芥。获得转基因拟南芥后研究了该启动子对信号物质 ABA 与低温处理的响应。

低温处理的结果表明，pGWB433-S6PDHp3 转基因植株中的 GUS 活性增幅最大，达到显著水平，而其他转基因植株中的 GUS 活性基本保持不变。这表明在该启动子序列-2396~-836bp 区域可能存在低温响应的负调控元件，而-836~-236bp 可能存在正调控元件，但目前在该启动子序列上未发现相应的顺式作用元件，以上结果还需要更多的研究来证明。另外，我们注意到，在 S6PDHp 序列的-1152~-1147bp 存在一个 LTR 元件(5’-TTTCGG-3’)[15]，该元件被认为与植物低温胁迫响应有关[17]，但其可能的作用方向与 S6PDHp 的启动方向相反。由此可推断，LTR 的低温胁迫响应功能可能与所在启动子序列的方向有关，LTR 在 S6PDHp 中并未发挥应有的作用。

ABA 处理的结果表明，除 pGWB433-S6PDHp4 外，其余启动子缺失体转基因拟南芥中 GUS 活性显著升高，这一结果表明，S6PDHp 在-2396~-236bp 区域存在很强的正调控元件。前期关于启动子序列分析的结果也证明了这一点，在该启动子序列的-523~-518bp 处存在一个 ABRE 元件[15]。很多研究表明 ABRE 元件与植物响应 ABA 有关[18]。一旦缺失了这个元件，植物对 ABA 的响应能力可能会大幅降低[19]。

综上，本研究在前期研究的基础上，进一步证明了低温和外源 ABA 能够诱导 6-磷酸山梨醇脱氢酶基因启动子的表达，不同缺失体的研究结果也初步发现了与逆境胁迫诱导相关的顺式作用元件存在的区段，研究结果对逆境胁迫诱导型启动子的研究和植物抗逆遗传转化具有较好的理论和实践意义。与逆境胁迫诱导相关的新的顺式作用元件的发现和精细定位有待于进一步研究。

参考文献

1. Loescher W H. Physiology and metabolism of sugar alcohols in higher plant. Physiology Plantarum, 1987, 70: 553-557

2. Zhou R, Cheng L L, Wayne R. Purification and characterization of sorbitol-6- phosphate phosphatase from apple leaves. Plant Science, 2003, 165: 227-232

3. Lo Biancoa R, Riegera M, Sung S S. Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach. Physiology Plantarum, 2000, 108: 71-78

4. Cui S M, Sadayoshi K, Ogawa Y, et al. Effects of water stress on sorbitol content in leaves and roots, anatomical changes in cell nuclei, and starch accumulation in leaves of young peach trees. Journal of Japanese Society Horticulture Science, 2004, 73(1): 25-30

5. Suleman P and Steiner P W. Relationship between sorbitol and solute potential in apple shoots relative to fire blight symptom development after infection by *Erwinia amylovora*. Phytopathology, 1994, 84: 1244-1250

6. Kanayama Y, Watanabe M, Moriguchi R, et al. Effects of low temperature and abscisic acid on the expression of the sorbitol-6-phosphate dehydrogenase gene in apple leaves. Journal of Japanese Society Horticulture Science, 2006, 75(1):20-25

7. Tao G, Suzuki Y, Uratsu S L, et al. Silencing leaf sorbitol synthesis alters long-distance partitioning and apple fruit quality. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103:18842-18847

8. Cheng L L , Zhou R, Reidel E J, et al.. Antisense inhibition of sorbitol synthesis leads to up-regulation of starch synthesis without altering CO_2 assimilation in apple leaves. Planta, 2005, 220:767-776

9. Kanayama Y, Mori H, Imaseki H, et al. Nucleotide sequence of a cDNA encoding sorbitol-6-phosphate dehydrogenase from apple. Plant physiology, 1992, 100:1607-1608

10. 梁东，马锋旺，张军科，等.苹果 6-磷酸山梨醇脱氢酶基因 cDNA 克隆及其植物表达载体构建. 农业生物技术学报, 2006, 14(4):635-636. [Liang D, Ma F W, Zhang J K, et al. Cloning of sorbitol-6-phosphate dehydrogenase S6PDH cDNA from apple and construction of its plant expression vector. Journal of Agricultural Biotechnology, 2006, 14 (4): 635-636]

11. Meng Y L, Xu X F, Khanizadeh S, et al. The contribution of abscisic acid to sorbitol accumulation in drought-stressed *Malus hupehensis*. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2008, 6: 319-326

12. Qi X T, Zhang, Y X, Chai T Y. Characterization of a novel plant promoter specifically induced by heavy metal and identification of the promoter regions conferring heavy metal responsiveness. Plant Physiology, 2007, 143, 50-59

13. Xu W R, Yu Y H, Ding J H, et al. Characterization of a novel stilbene synthase promoter involved in pathogen- and stress-inducible expression from Chinese wild Vitis pseudoreticulata. Planta, 2010, 231:475-487

14. Li J, Li M J, Liang D, et al. Expression patterns and promoter characteristics of the gene encoding *Actinidia deliciosa* L-galactose-1-phosphate phosphatase involved in the response to light and abiotic stresses. Molecular Biology Reporter. 2013, 40:1473–1485

15. Liang D, Cui M, Wu S, et al. Genomic Structure, Sub-Cellular Localization, and Promoter Analysis of the Gene Encoding Sorbitol-6-Phosphate Dehydrogenase from Apple. Plant Molecular Biology Reporter. 2012, 30(4):904–914

16. Jefferson R A, Kavanagh T A, Bevan M W. GUS fusions:beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. European Molecular Biology Organization Jouranl, 1987, 6:3901-3907

17. White A J, Dunn M A, Brown K, et al. Comparative analysis of genomic sequence and expression of a lipid transfer protein gene family in winter barley. Journal of Experimental Botany, 1994, 45:1885-1892

18. Yamaguchi S K and Shinozaki K. Arabidopsis DNA encoding two desiccation~responsive rd29 genes. Plant Physiology, 1993, 101(3):1119-1120

19. Li J, Liang D, Li M J, et al. Light and abiotic stresses regulate the expression of GDP‐ l‐ galactose phosphorylase and levels of ascorbic acid in two kiwifruit genotypes via light‐ responsive and stress‐ inducible cis‐ elements in their promoters. Planta, 2013, 238:535–547

Research on stress-inducible expression characteristics of sorbitol-6-phosphate dehydrogenase promoter from apple*

XIA Hui, LIU Lei, WANG Xiu, SHEN Yan-qiu, GUO Yv-lun, LIANG Dong

College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Institute of Pomology and Olericulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Chengdu Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Chengdu 611130, China

Abstract In order to understand stress-inducible expression characteristics of sorbitol-6-phosphate dehydrogenase (S6PDH) promoter (S6PDHp) from apple, a series of 5' deletions of S6PDH promoter were fused with GUS reporter gene by Gateway and introduced into arabidopsis by agrobacterium-mediated transformation. The expression characteristics of S6PDHp were validated by GUS activity changed in transgenetic arabidopsis against low temperature and exogenous ABA. Molecular detection analysis revealed that 4 5' deletions of S6PDHp were fused with GUS reporter gene successfully (i.e. pGWB433-S6PDHp1, pGWB433-S6PDHp2, pGWB433-S6PDHp3 and pGWB433-S6PDHp4) and relevant transgenetic arabidopsis were obtain in this study. In low temperature treatment, GUS activity in pGWB433-S6PDHp3 transgenetic line increased markedly, while had obvious change in others deletions transgenetic lines. In exogenous ABA treatment, GUS activity in others deletions transgenetic lines increased dramatically except pGWB433-S6PDHp4. These results suggest that S6PDHp can be induced by low temperature or exogenous ABA, however, there were different response in every deletions. These indicated that positive and negative cis-regulatory elements in response to abiotic stress may co-existed in the promoter region (-2396bp to -236bp) of S6PDH.

Keywords Sorbitol-6-phosphate dehydrogenase Promoter Reporter gene Transformation Apple